

THẨM ĐỊNH QUY TRÌNH PHÂN TÍCH ĐỒNG THỜI HÀM LƯỢNG PARACETAMOL VÀ CAFFEIN KHI CÓ MẶT CODEIN TRONG DƯỢC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ ĐẠO HÀM UV-VIS

ĐỖ THỊ LONG*, NGUYỄN THỊ MAI, TĂNG THỊ TRÚC PHƯƠNG

Khoa Công nghệ Hoá học, Trường Đại học Công nghiệp thành phố Hồ Chí Minh

*Tác giả liên hệ: dothilong@iuh.edu.vn

DOIs: <https://doi.org/10.46242/jstiuh.v62i02.4779>

Tóm tắt. Đã thẩm định quy trình phân tích paracetamol (PAR) và cafein (CAF) khi có mặt codein (COD) trong các mẫu dược phẩm bằng phương pháp phổ đạo hàm UV-VIS. Đã lựa chọn phổ đạo hàm bậc hai và bước sóng 236 nm và 292 nm là bước sóng tối ưu để phân tích PAR và CAF. Khoảng tuyến tính xác định PAR và CAF lần lượt 0.5 – 40.0 và 0.15 – 40.0 mg/L với hệ số R^2 là 0.9974 và 0.9975. LOD và LOQ được xác định lần lượt là 0.07 mg/L, 0.23 mg/L và 0.10 mg/L, 0.33 mg/L đối với PAR và CAF. Phương pháp có độ lặp tốt với $RSD_r < 2\%$ đối với cả chuẩn và mẫu và hiệu suất thu hồi đối với cả hai chất đều nằm trong khoảng 89 – 109%. Đã đánh giá ảnh hưởng qua lại giữa các chất đến kết quả phân tích và cho thấy phương pháp hoàn toàn phù hợp với các tỉ lệ hàm lượng dược chất thường được sử dụng. Phương pháp đã được áp dụng để phân tích một số mẫu dược phẩm trên thị trường Việt Nam và đối chiếu với kết quả tại Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh (CASE).

Từ khóa: paracetamol, cafein, codein, UV-VIS, phổ đạo hàm.

1. MỞ ĐẦU

Paracetamol (PAR) N-acetyl-p-aminophenol (acetaminophen) là thuốc được chỉ định để điều trị đau nhẹ đến trung bình hoặc sốt ở bệnh nhân, kể cả trẻ sơ sinh thông qua trực tràng, uống hoặc tiêm tĩnh mạch. [1]. Để giúp người bệnh thêm tỉnh táo và tăng hiệu quả giảm đau, paracetamol thường được sử dụng kết hợp với các dược chất khác như cafein, codein, ... và đa phần những loại thuốc này thuộc nhóm không kê đơn. Cafein (1,3,7-trimethylxanthine) là một chất kích thích alkaloid tự nhiên được sử dụng rộng rãi trong các sản phẩm thương mại [2]. Thông thường, cafein được thêm vào dược phẩm giảm đau không chỉ vì hoạt tính lợi tiểu của nó [3] mà còn kích thích trung tâm và hệ thống mạch máu tim, có tác dụng thần kinh tạm thời giúp khôi phục sự tỉnh táo. Codein (COD) (methyilmorphine) là một alkaloid được chiết xuất từ cây anh túc, thuộc họ thuốc phiện hoặc tổng hợp bằng cách methyl hóa từ morphin. Với hoạt tính dược lý tương tự như morphin, COD được sử dụng kết hợp với PAR và CAF để tăng hiệu quả giảm đau và chống ho [4]. Ở liều điều trị, PAR không gây ra tác dụng phụ và có thể được coi như là một loại thuốc y học an toàn. Tuy nhiên, sử dụng quá liều hoặc mãn tính paracetamol có thể gây ra tích tụ các chất chuyển hóa độc hại trong thận và gan, gây tổn thương cả hai cơ quan [5]. Tương tự như vậy, CAF an toàn với lượng tiêu thụ vừa phải (khoảng 0.2 g/ngày), nhưng với liều lượng cao hơn 2 g/ngày có thể gây loạn nhịp tim, tăng huyết áp nghiêm trọng, co giật và thậm chí tử vong.

Để kiểm soát hàm lượng PAR và CAF, hiện nay có các nghiên cứu sử dụng các phương pháp đòi hỏi kinh phí đầu tư thiết bị như HPLC [6], HPTLC [7], RP-HPLC [8], NIR [9], ... Song song đó cũng có những nghiên cứu giúp giảm bớt kinh phí như sử dụng phương pháp phân tích điện hoá [10,11] hay phương pháp quang phổ UV-VIS kết hợp phổ đạo hàm [12-15]. Trong đó, phương pháp UV-VIS có ưu điểm là dễ thực hiện, thiết bị đơn giản nhưng vẫn đảm bảo độ chính xác cao. Phương pháp này cũng được sử dụng khá rộng rãi trong phân tích dược phẩm và nhiều đối tượng khác [16-20]. Tuy nhiên khi phân tích đồng thời hai chất có phổ hấp thụ xen phủ và đặc biệt khi trong mẫu còn có thành phần thứ ba có phổ hấp thụ xen phủ với phổ của các chất cần phân tích thì việc loại trừ ảnh hưởng giữa các chất cần phải được thực hiện triệt để. Do đó, để phân tích PAR và CAF khi có mặt COD cần một phương pháp với các điều kiện tối ưu để loại bỏ ảnh hưởng của COD. Nghiên cứu này nhằm mục đích đưa ra một quy trình hoàn chỉnh giúp phân tích các hoạt chất PAR và CAF trong dược phẩm với sự có mặt của COD bằng phương pháp phổ đạo hàm UV-VIS đơn giản.

2. THỰC NGHIỆM

2.1 Hóa chất và thiết bị

2.1.1 Hóa chất

Chất chuẩn paracetamol, cafein và codein là chất đối chiếu có độ tinh khiết 99,5 % được mua tại Viện kiểm nghiệm thuốc Thành Phố Hồ Chí Minh. Dung dịch chuẩn PAR (1000 mg/L) và CAF (1000 mg/L) và COD (1000 mg/L) được chuẩn bị bằng cách hòa tan lượng chính xác chất chuẩn cân thiết trong dung môi methanol : nước tỉ lệ 20 : 80 (v/v), bảo quản trong ngăn mát tủ lạnh. Các dung dịch chuẩn làm việc được pha loãng từ dung dịch chuẩn 1000 mg/L bằng dung môi như trên.

2.1.2 Thiết bị

Các dung dịch được quét phổ trên thiết bị Máy quang phổ Genesys 10 trong khoảng bước sóng 200-400 nm với $\Delta\lambda = 1$ nm. Phổ hấp thụ được chuyển sang các dạng đạo hàm khác nhau bằng phần mềm Origin.

2.2 Mẫu và chuẩn bị mẫu

Mẫu thuốc trên thị trường Việt Nam chứa ít nhất hai trong ba dược chất như Co-padein, Paracold codein, Effergal codeine, Panadol extra và Hapacol extra được mua, bảo quản ở nhiệt độ phòng. Dược chất không phát hiện trong mẫu sẽ được thêm chuẩn để đánh giá khi cần thiết. Ngoài ra, kết quả phân tích mẫu đại diện cũng được đánh giá đối chiếu bằng phương pháp HPLC tại Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh (CASE).

Đối với mỗi mẫu, chọn ngẫu nhiên 20 viên, cân và tính khối lượng trung bình mỗi viên, nghiền thành bột mịn và trộn đều. Cân chính xác một phần bột tương đương với 1/10 viên mẫu chuyển vào bình định mức 100 mL, hoà tan bằng dung môi methanol : nước với tỷ lệ 20 : 80 (v/v). Lắc và ngâm trong 25 phút để mẫu hòa tan hoàn toàn và định mức tới vạch. Lọc dung dịch thu được qua giấy lọc Whatman. Hút chính xác 5.0 mL dung dịch sau lọc cho vào bình định mức 100 mL và định mức tới vạch. Tiến hành quét phổ hấp thụ của dung dịch mẫu đo trong khoảng bước sóng 200 nm – 400 nm, ghi lại phổ hấp thụ và kết quả được xử lý bằng phần mềm Origin. Từ đó tính hàm lượng của PAR và CAF có trong mẫu.

2.3 Thẩm định phương pháp

Đường hồi quy tuyến tính được xây dựng bằng cách phân tích các dung dịch chuẩn. Đồng thời căn cứ vào hệ số tương quan (R^2) và độ chệch nồng độ Δi để công bố khoảng tuyến tính.

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) thu được dựa trên kết quả phân tích lặp lại 11 mẫu trắng (mẫu placebo) và tính toán theo công thức (1) và (2). Trong đó X_0 và SD lần lượt là giá trị trung bình và độ lệch chuẩn từ kết quả phân tích hàm lượng trong mẫu trắng.

$$LOD = X_0 + 3.SD \quad (1)$$

$$LOD = \frac{10}{3}.LOD \quad (2)$$

Độ lặp lại của phương pháp được đánh giá đối với chuẩn và mẫu, thực hiện bằng cách tiến hành phân tích lặp lại 6 lần trong cùng 1 ngày. Từ các kết quả thu được, tính \bar{X} , $S_{r(i)}$, và RSD_r để đánh giá độ lặp lại theo công thức (3) và (4):

$$S_{r(i)} = \frac{\sum(X_i - \bar{X})}{n-1} \quad (3)$$

$$SRD_r(\%) = \frac{S_{r(i)}}{\bar{X}} \cdot 100 \quad (4)$$

Hiệu suất thu hồi của phương pháp phân tích được đánh giá dựa vào kết quả phân tích mẫu và mẫu thêm chuẩn với các lượng khác nhau. Thực hiện phân tích 6 lần đối với mỗi trường hợp để lấy giá trị trung bình và tính toán theo công thức (5). Trong đó, $C_{mẫu+chuẩn}$ và $C_{mẫu}$ lần lượt là nồng độ mẫu và mẫu thêm chuẩn thu được bằng thực nghiệm và $C_{chuẩn}$ là nồng độ chuẩn thêm vào.

$$H(\%) = \frac{C_{mẫu+chuẩn} - C_{mẫu}}{C_{chuẩn}} \quad (5)$$

Phương pháp còn được đánh giá độ chọn lọc thông qua việc đánh giá ảnh hưởng giữa của các chất bằng cách tăng dần tỉ lệ thành phần ảnh hưởng cho đến khi cao hơn hàm lượng thường gặp trong mẫu dược phẩm hoặc gây ra sai số tối đa là 5%.

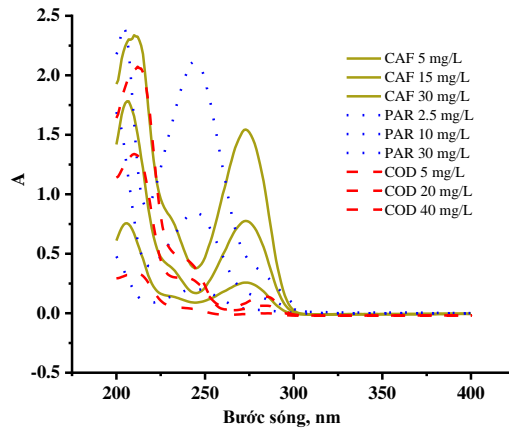
Độ đúng của phương pháp được đánh giá bằng cách so sánh kết quả thực nghiệm với kết quả phân tích đối chiếu μ từ Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh (CASE) theo tiêu chuẩn t – Student [21]. Giá trị ttn tính theo công thức (6) được so sánh với giá trị tc (0.95; 5) = 2.57.

$$t_{tn} = \frac{|\mu - \bar{X}|}{\sqrt{\frac{S^2}{n}}} \quad (6)$$

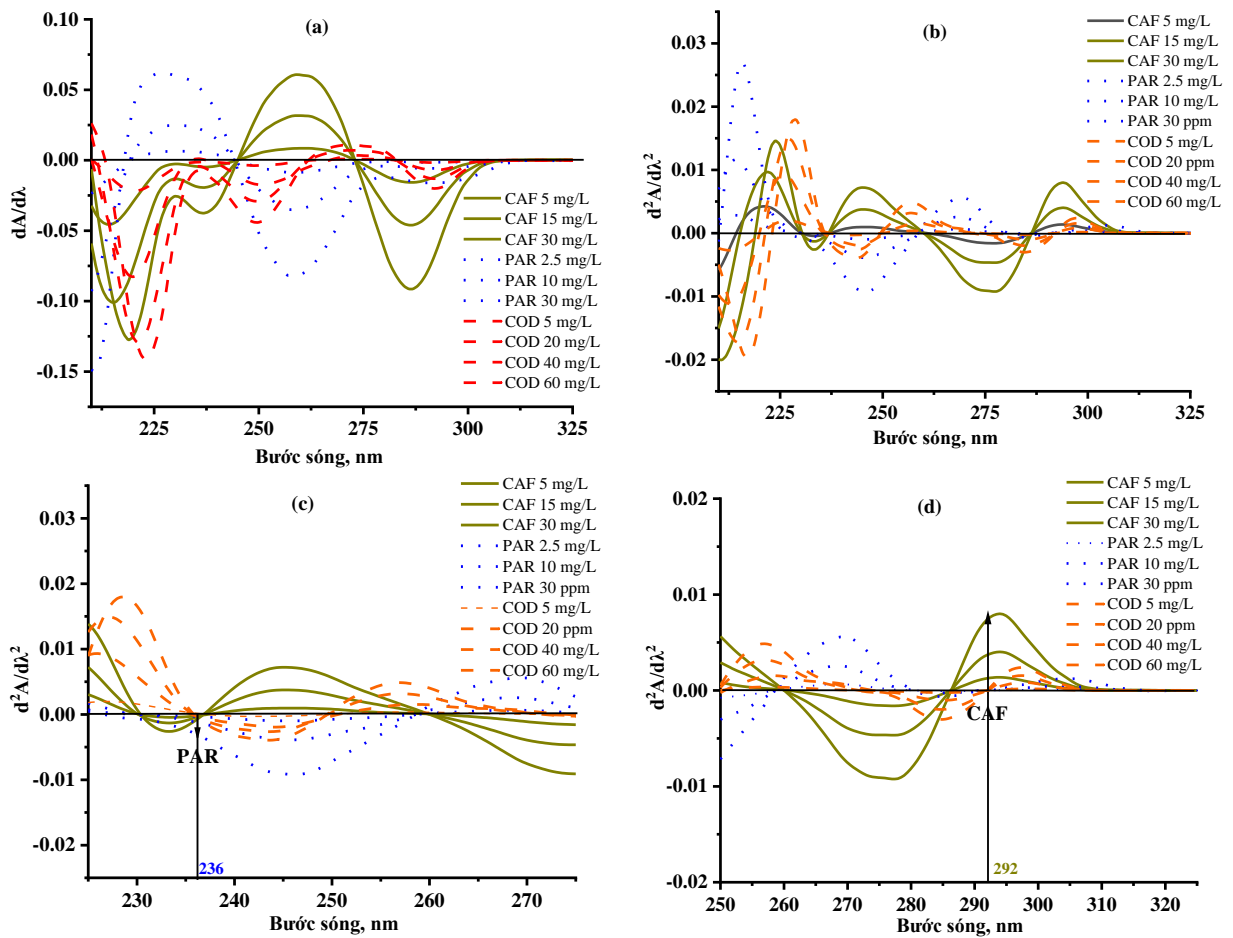
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1 Kết quả thẩm định phương pháp

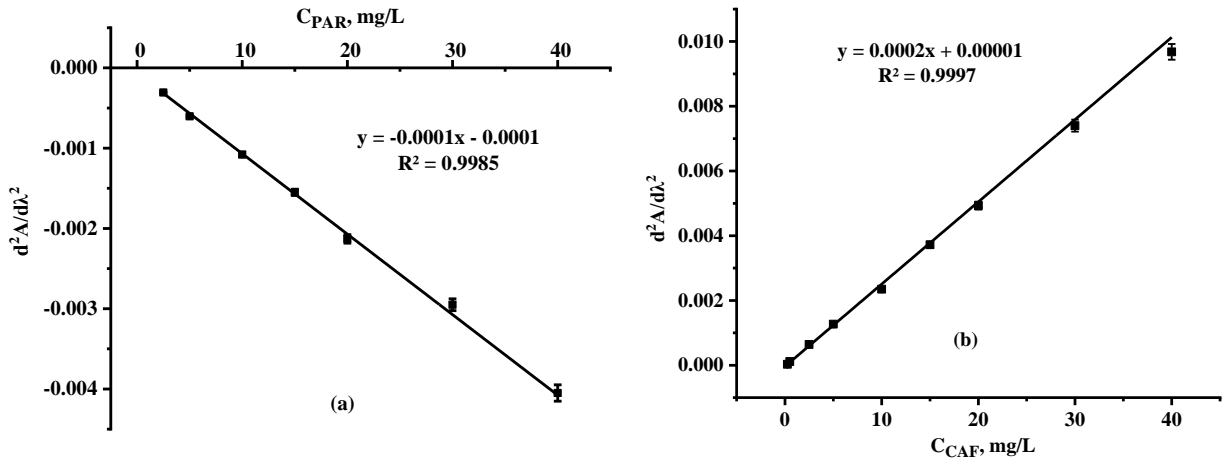
3.1.1 Bước sóng tối ưu



Hình 1. Phổ hấp thụ của các dung dịch chuẩn PAR, CAF và COD.



Hình 2. Phổ đạo hàm bậc 1 (a), bậc 2 (b _ dạng tổng quát, và c, d _ dạng phóng to) của các dung dịch PAR, CAF và COD.



Hình 3. Đường chuẩn xác định PAR (a) và CAF (b)

Với việc phổ hấp thụ của các dung dịch chuẩn PAR, CAF và COD xen phủ lẫn nhau (Hình 1) không cho phép dễ dàng phân tích từng thành phần PAR và CAF trong dung dịch bằng phổ UV-VIS. Đối với phương pháp phổ đạo hàm, bước sóng tối ưu để phân tích một chất khi có mặt các chất khác là bước sóng tại đó giá trị đạo hàm của chất cần phân tích có giá trị xác định và của các chất khác bằng 0 [12-15]. Trên phổ đạo hàm bậc 1 (Hình 2a), tại mọi bước sóng đều có ít nhất hai chất có giá trị đạo hàm khác 0 được ghi nhận nên không thể chọn được bước sóng thích hợp để phân tích từng thành phần PAR và CAF. Trong khi đó, đối với phổ đạo hàm bậc 2 (Hình 2b, 2c, 2d) có thể chọn được bước sóng tối ưu để phân tích PAR và CAF lần lượt là 236 và 292 nm.

3.1.2 Khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Dựa trên kết quả đo ít nhất 3 lần đối với mỗi nồng độ dung dịch chuẩn và yêu cầu độ lệch chuẩn của tất cả các điểm chuẩn đều không quá 2.5%, đã thu được khoảng tuyến tính đối với PAR và CAF là 0.5 – 40.0 và 0.15 – 40.0 mg/L với hệ số hồi quy lần lượt là 0.9974 và 0.9975. Đường chuẩn xác định PAR và CAF được xây dựng lần lượt trong các khoảng nồng độ 2.5 – 40.0 mg/L và 0.25 – 40.0 mg/L với các hệ số hồi quy tương ứng là 0.9985 và 0.9997 (Hình 3).

3.1.3 LOD và LOQ

Dựa trên kết quả phân tích 11 lần đối với mẫu trắng (mẫu placebo), đã xác định được giới hạn phát hiện LOD và giới hạn định lượng LOQ đối với PAR, CAF lần lượt là 0.07 mg/L, 0.23 mg/L và 0.10 mg/L, 0.33 mg/L. Tiếp tục thêm chuẩn bằng giới hạn định lượng LOQ trên mẫu trắng đã sử dụng và thực hiện phép phân tích lặp lại 6 lần. Hiệu suất thu hồi trung bình thu được đối với PAR và CAF lần lượt là 84,5 và 83,7% cho thấy phương pháp đáp ứng yêu cầu AOAC Appendix F (80 – 110%) [22].

Bảng 1. Độ lặp lại đánh giá trên chuẩn

Chất phân tích	PAR	CAF
C, mg/L	20.20	2.06
	20.40	2.01
	20.00	2.01
	19.80	2.02
	20.30	2.01
	20.10	2.01
\bar{C} , mg/L	20.13	2.02
RSD _r (%)	1.07	0.92

Bảng 2. Độ lặp lại đánh giá trên mẫu

Mẫu	1		2	
Chất phân tích	PAR	CAF	PAR	CAF*
C, mg/L	23.90	3.02	24.30	0.83
	24.10	3.05	24.30	0.81
	24.20	3.00	24.20	0.83
	24.20	3.04	24.20	0.80
	24.30	3.05	24.10	0.83
	24.70	2.99	24.20	0.80
\bar{C} , mg/L	24.23	3.03	24.30	0.82
RSD _r (%)	1.09	0.78	0.31	1.60

* Chuẩn được thêm vào mẫu.

3.1.4 Độ lặp lại

Độ lặp lại được thực hiện đối với chuẩn PAR, CAF với sự có mặt của COD và đối với mẫu dược phẩm. Với mẫu chỉ chứa hai thành phần sẽ thêm chuẩn đối với thành phần còn lại để tạo mẫu ba thành phần. COD

được thêm vào để đạt nồng độ 3 mg/L trong dung dịch đo. Kết quả được trình bày trong bảng 1 và 2. Đối với tất cả các dung dịch chuẩn và mẫu đại diện giá trị SRD_r (%) đều nằm trong ngưỡng cho phép theo AOAC Appendix F (<11%), cho thấy phương pháp có độ lặp lại tốt.

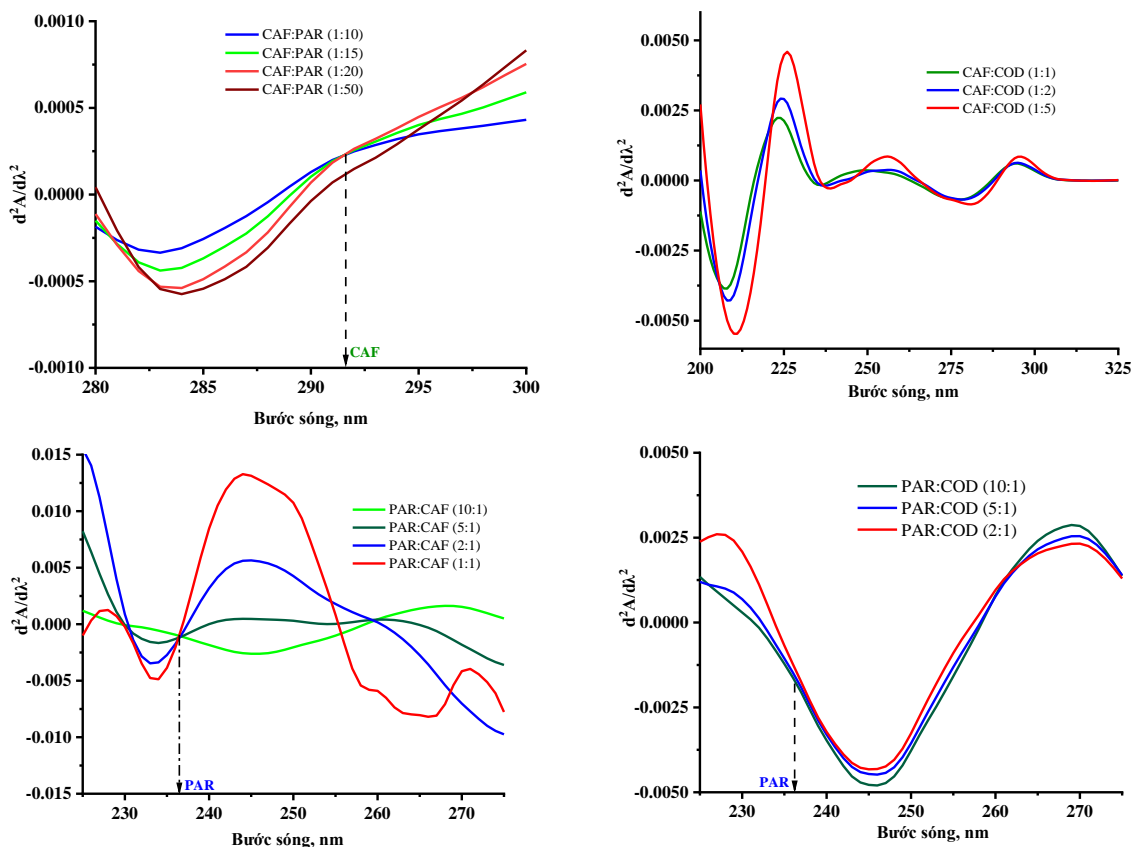
3.1.5 Hiệu suất thu hồi

Hiệu suất thu hồi được đánh giá bằng cách phân tích mẫu và mẫu thêm chuẩn với các lượng khác nhau. Mẫu không chứa COD được thêm chuẩn COD với nồng độ trong dung dịch đo là 3.0 mg/L. Mỗi trường hợp được phân tích lặp lại 7 lần để lấy giá trị trung bình (Bảng 3). Kết quả cho thấy hiệu suất thu hồi đối với cả PAR và CAF đều có giá trị khoảng 89 – 109% nằm trong giới hạn cho phép theo AOAC Appendix F (80 – 110%). Điều này cho thấy phương pháp có độ tin cậy cao.

Bảng 3. Hiệu suất thu hồi của phương pháp phân tích PAR và CAF

Chất phân tích	$C_{mẫu}$, mg/L	$C_{chuẩn}$, mg/L	$C_{mẫu+chuẩn}$, mg/L	$C_{chuẩn}$ thực tế, mg/L	H%
PAR	9.68	8.0	17.03 ± 0.04	7.35 ± 0.16	91.02 ± 1.94
		10.0	18.65 ± 0.02	9.87 ± 0.10	89.70 ± 1.02
		12.0	20.73 ± 0.03	11.05 ± 0.12	92.11 ± 0.97
CAF	3.03	2.5	5.66 ± 0.01	2.66 ± 0.04	106.33 ± 1.79
		3.0	6.09 ± 0.01	3.09 ± 0.06	103.06 ± 1.94
		3.5	6.82 ± 0.02	3.82 ± 0.07	109.05 ± 1.11

3.1.6 Độ chọn lọc



Hình 4. Độ chọn lọc khi xét dung dịch có hai thành phần

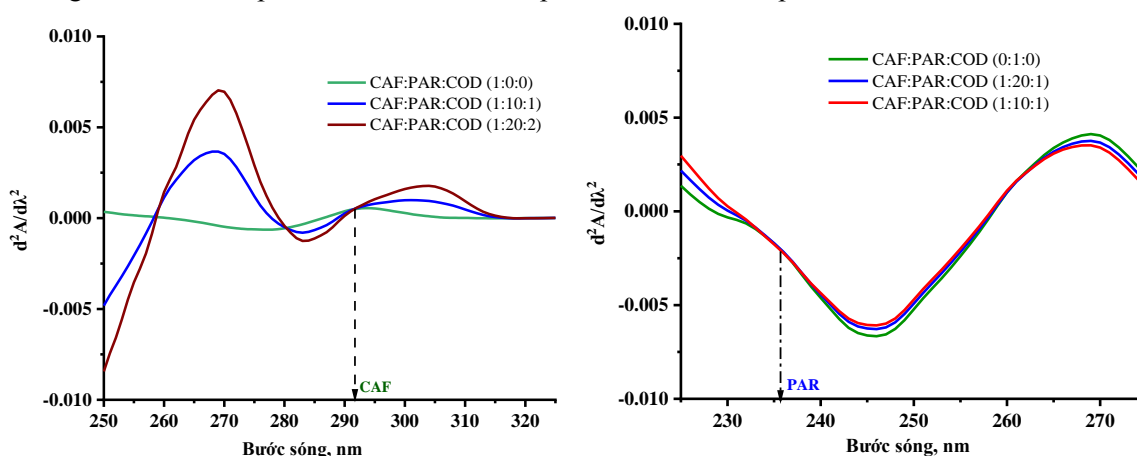
Độ chọn lọc trước hết được đánh giá trên dung dịch chuẩn chứa hai thành phần, trong đó có một thành phần cần phân tích và một thành phần ảnh hưởng. Sau đó đánh giá sai số đối với các dung dịch chứa cả 3 thành phần PAR, CAF và COD để khẳng định độ chọn lọc của phương pháp.

Với các dung dịch chứa hai thành phần, tỉ lệ các thành phần được thay đổi sao cho hàm lượng chất ảnh hưởng tăng dần (Hình 4). Kết quả được trình bày trong Bảng 4. Với hàm lượng thực tế của các dược chất PAR, CAF và COD trong các loại thuốc ở Việt Nam trước đây và trên thế giới thì lượng COD sử dụng với tỉ lệ khá thấp so với CAF và rất thấp so với PAR. Do đó với sai số ghi nhận như trong Bảng 4 thì phương pháp được đề xuất hoàn toàn phù hợp.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ chọn lọc của phương pháp khi xét dung dịch chứa hai thành phần

Chất phân tích	Tỉ lệ		Sai số (%)
	CAF	CAF:PAR	
	CAF:COD	2:1	
PAR	PAR:CAF	5:1	
	PAR:COD	10:1	

Để kiểm chứng thêm mức độ tin cậy của phương pháp, đã đánh giá sai số khi phân tích một dược chất với sự ảnh hưởng của hai thành phần còn lại. Kết quả trình bày trong Hình 5 và Bảng 5 cho thấy giới hạn ảnh hưởng của các thành phần hoàn toàn thích hợp với các mẫu dược phẩm thực tế.



Hình 5. Độ chọn lọc khi xét dung dịch chứa cả ba thành phần

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ chọn lọc của phương pháp khi xét dung dịch chứa ba thành phần

Chất phân tích	Tỉ lệ		Sai số (%)
	CAF	CAF:PAR:COD	
	CAF:PAR:COD	1:20:2	
PAR	CAF:PAR:COD	1:20:1	
	CAF:PAR:COD	1:10:1	

3.2 Phân tích mẫu

Bảng 6. Kết quả phân tích một số mẫu dược phẩm

STT	Tên mẫu	Thành phần mẫu	Hàm lượng phân tích	
			PAR (mg/viên)	CAF (mg/viên)
1	Co-padein	Paracetamol 500 mg, Codein 10 mg	492.0 ± 3.5	KPH
2	Paracold codein	Paracetamol 500 mg, Codein 30 mg	490.0 ± 3.5	KPH
3	Efferalgan codeine	Paracetamol 500mg, Codein 30mg	480.0 ± 2.3	KPH
4	Panadol Extra	Paracetamol 500mg, Cafein 65mg	484.0 ± 3.4	60.0 ± 2.3
5	Hapacol Extra	Paracetamol 500mg, Cafein 65mg	485.0 ± 4.7	64.0 ± 2.7

Kết quả phân tích một số mẫu trên thị trường Việt Nam cho thấy hàm lượng phù hợp với thông tin ghi trên hộp thuốc (Bảng 6). Kết quả CAF không phát hiện đối với các mẫu không chứa CAF. Ngoài ra, độ đúng của phương pháp còn được đánh giá bằng kết quả phân tích đối chiếu từ Trung tâm dịch vụ phân tích thí

nghiệm Thành phố Hồ Chí Minh (CASE) đối với mẫu Hapacol Extra. Các giá trị t_{tn} đối với PAR và CAF tính toán theo chuẩn t- Student đều thấp hơn giá trị cho phép t_c, cho thấy phương pháp đề xuất hoàn toàn tin cậy (Bảng 7).

Bảng 7. Kết quả phân tích đối chiếu mẫu Hapacol Extra từ CASE

Chỉ tiêu phân tích	Đơn vị	Kết quả	Phương pháp	Đánh giá theo chuẩn t - Student	
				t _{tn}	t _c
Paracetamol	%	66.8	CASE.HD.0026	2.37	2.57
	%	65.4	Phương pháp đề xuất		
Cafein	%	8.92	CASE.HD.0026	0.81	
	%	8.65	Phương pháp đề xuất		

4. KẾT LUẬN

Đã thẩm định thành công phương pháp phân tích đồng thời paracetamol và cafein trong mẫu dược phẩm có mặt codein bằng phương pháp phổ đạo hàm UV-VIS. Phương pháp đề xuất sử dụng thiết bị UV-VIS khá phổ biến, thao tác đơn giản rất phù hợp với nhu cầu thực tế. Với độ chọn lọc tốt, hiệu suất thu hồi (89 – 109 %) và độ đúng cao, phương pháp hoàn toàn đáp ứng để phục vụ cho việc đánh giá, kiểm tra hàm lượng paracetamol và cafein trong các mẫu có codein một cách nhanh chóng.

CẢM ƠN

Xin cảm ơn Khoa Công nghệ Hoá học Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện về thiết bị và cơ sở vật chất trong quá trình thực hiện đề tài nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T. A. Silva, H. Zanin, E. J. Corat, and O. Fatibello-Filho, Simultaneous Voltammetric Determination of Paracetamol, Codeine and Caffeine on Diamond-like Carbon Porous Electrodes, *Electroanalysis*, vol. 28, pp. 1-11, 2016.
- [2] R. L. Bailey, L. G. Saldanha, J. J. Gahche, J. T. Dwyer, *Nutrition reviews*, vol. 72, pp. 9-13, 2014.
- [3] J. Sawynok, Pharmacological rationale for the clinical use of caffeine, *Drugs*, vol. 49, pp. 37–50, 1995.
- [4] A. Dahan, O. Wolk, M. Zur, G. L. Amidon, B. Abrahamsson, R. Cristofolletti, D. Groot, S. Kopp, P. Langguth, J. E. Polli, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 103, pp. 1592 –1600, 2014.
- [5] B. D. Clayton, M. Willihnganz, Basic pharmacology for nurses, *Elsevier Health Sciences*, 2016.
- [6] M. Rahimi, N. Khorshidi, R. Heydari, Simultaneous determination of paracetamol and caffeine in aqueous samples by ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled with high-performance liquid chromatography, *SSC Plus*, vol. 3, no. 11-12, pp. 561-570, 2020.
- [7] P. Alam, F. Shakeel, A. Ali, M. H. Alqarni, A.I. Foudah, T. M. Aljarba, F.K. Alkholifi, S. Alshehri, M. M. Ghoneim and A. Ali, Simultaneous Determination of Caffeine and Paracetamol in Commercial Formulations Using Greener Normal-Phase and Reversed-Phase HPTLC Methods: A Contrast of Validation Parameters, *Molecules*, vol. 27, no. 405, pp. 1-15, 2022.
- [8] A. Acheampong, W. O. Gyasi, G. Darko, J. Apau and S. Addai-Arhin, Validated RP-HPLC method for simultaneous determination and quantification of chlorpheniramine maleate, paracetamol and caffeine in tablet formulation, *Springer Plus*, vol. 5, no. 625, pp. 1-8, 2016.
- [9] D. M. Muntean, C. Alecu, and I. Tomuta, Simultaneous Quantification of Paracetamol and Caffeine in Powder Blends for Tableting by NIR-Chemometry, *Journal of Spectroscopy*, pp. 1-8, 2017.
- [10] M. K. S. Monteiro, E. C. M. M. Santos, D. R. Silva, C. A. Martínez-Huitle và E. V. dos Santos, Simultaneous determination of paracetamol and caffeine in pharmaceutical formulations and synthetic urine using cork-modified graphite electrodes, *Journal of Solid State Electrochemistry*, vol. 24, pp. 1789-1800, 2020.
- [11] K. Cakir, C. Erkmen, B. Uslu, N. G. Goger, Quantitative determination of paracetamol, caffeine and codeine phosphate in pharmaceutical dosage forms by using capillary electrophoresis method, *Revue Roumaine de Chimie*, vol. 64, no. 9, pp. 801-808, 2019.
- [12] Vu Dang Hoang, Simultaneous Determination of Paracetamol and Codeine Phosphate in Combined Tablets by First-Order Derivative and Ratio Spectra First-Order Derivative UV Spectrophotometry, *Asian J. Research Chem*, vol.2, no. 2, pp. 143-147, 2009.
- [13] A. Ashour, M. A. Hegazy, M. Abdel-Kawy, M. B. ElZeiny, Simultaneous spectrophotometric determination of overlapping spectra of paracetamol and caffeine in laboratory prepared mixtures and pharmaceutical preparations

- using continuous wavelet and derivative transform, *Journal of Saudi Chemical Society*, vol.19, no.2, pp. 186-192, 2015.
- [14] H. Tavallali and M. Salami, Simultaneous Determination of Caffeine and Paracetamol by Zero-Crossing Second Derivative Spectrophotometry in Pharmaceutical Preparations, *Asian Journal of Chemistry*, vol. 21, no. 3, pp. 1949-1956, 2009.
- [15] S. Antakli, L. Nejem, M. Dawoud, Spectrophotometric Determination of Paracetamol and Caffeine, *Asian Journal of Chemistry*, vol. 26, no. 20, pp. 7016-7020, 2014.
- [16] V. K. Redasani, P. R. Patel, D. Y. Marathe, S. R. Chaudhari, A. A. Shirkhedkar and S. J. Surana, A review on derivative uv-spectrophotometry analysis of drugs in pharmaceutical formulations and biological samples review, *J. Chil. Chem. Soc.*, vol. 63, no. 3, pp. 4126-4134, 2018.
- [17] A. Parmar and S. Sharma, Derivative UV-vis absorption spectra as an invigorated spectrophotometric method for spectral resolution and quantitative analysis: Theoretical aspects and analytical applications: A review, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 77, pp. 44-53, 2016.
- [18] Z. Yaneva, D. Ivanova¹, G. Beev², K. Besheva, Quantification of catechin in Acacia catechu extract by non-derivative, first derivative UV/Vis spectrophotometry and FT-IR spectroscopy, *Bulgarian Chemical Communications*, vol. 52, no. D, pp. 41-47, 2020.
- [19] E. E. Banda-Cruz, N. V. Gallardo-Rivas, R. D. Martínez-Orozco, U. Páramo-García and A. M. Mendoza-Martínez, Derivative UV-Vis Spectroscopy of Crude Oil and Asphaltene Solutions for Composition Determination, *Journal of Applied Spectroscopy*, vol. 87, no. 6, 1157-1162, 2021.
- [20] F. Olmo, J. Garoz-Ruiz, A. Colina and A. Heras, Derivative UV/Vis spectroelectrochemistry in a thin-layer regime: deconvolution and simultaneous quantification of ascorbic acid, dopamine and uric acid, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 412, pp. 6329–6339, 2020.
- [21] T.C. Sơn, P.X. Đà, L.H. Thảo và N.T. Trung, *Thẩm định phương pháp phân tích hoá học và vi sinh vật*, NXB Khoa học và kỹ thuật Hà Nội, 2010.
- [22] AOAC, Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.

VALIDATION OF AN ANALYTICAL METHOD FOR THE SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PARACETAMOL AND CAFFEINE IN PRESENT OF CODEINE IN DRUGS BY DERIVATIVE UV SPECTROPHOTOMETRY

THI LONG DO*, THI MAI NGUYEN, THI TRUC PHUONG TANG

Faculty of Chemical Engineering, Industrial University of Ho Chi Minh City, Ho Chi Minh City

**Corresponding author: dothilong@iuh.edu.vn*

Abstract. The analytical method for determination of paracetamol (PAR) and caffeine (CAF) in the presence of codeine (COD) in pharmaceutical samples by UV-VIS derivative spectroscopy was validated. The second derivative spectrum was selected and the wavelengths of 236 nm and 292 nm were the optimal wavelengths for PAR and CAF analysis. The linear ranges for determining PAR and COD were 0.5 – 40.0 and 0.15 – 40.0 mg/L, with $R^2 = 0.9974$ and 0.9975 , respectively. LODs, LOQs were found and they were 0.07 mg/L, 0.23 mg/L and 0.10 mg/L, 0.33 mg/L for PAR and CAF, respectively. The method had good repeatability with $RSD_r < 2\%$ for both standard and sample, and recovery efficiencies for both substances were in the range of 89 – 109%. Research carried out to evaluate the interaction between substances on the analytical results and showed that the method was completely consistent with the ratio of drug content commonly. The method was applied to analyze pharmaceutical samples in Vietnam and compared with the results at the Center for Analytical Services and Experimentation of Ho Chi Minh City (CASE).

Keywords. paracetamol, caffeine, codeine, UV-VIS, derivative spectrophotometric method.

Ngày gửi bài: 04/10/2022

Ngày chấp nhận đăng: 07/12/2022